

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان  
دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان :

بررسی سمیت سلولی تعدادی مشتقات استخلاف شده (فلوئور و کلر) فنوکسی  
و نفتوکسی اتیل ۵-نیترو-۲-متیل ایمیدازول بر روی رده های سلولی A549،  
MCF-7 و HT-29



توسط :

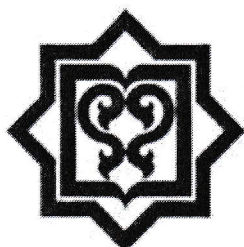
شیرین بیگی

به راهنمایی:

دکتر صالحه صبوری

دکتر احسان فقیه میرزایی

دکتر علی اسدی پور



**Kerman University of Medical Sciences  
Faculty of Pharmacy**

**Pharm. D Thesis**

**Title:**

**Evaluation of cytotoxicity of (Flourine and Chlorine  
substituted) Phenoxy and Naphthoxy ethyl 5-nitro 2-  
methyl imidazole derivatives on A549, MCF-7 and HT-  
29 cell lines**

**By:**

**Shirin Beigi**

**Supervisors:**

**Dr. Saleheh Sabouri**

**Dr. Ehsan Faghihmirzaei**

**Dr. Ali Asadipour**

**Jul 2017**

**Thesis No. :918**

## چکیده

**مقدمه:** امروزه یکی از مهمترین مشکلات بیماری سرطان است که هر ساله افراد زیادی را مبتلا میکند. بنابراین محققان همچنان به دنبال یافتن روشی برای درمان این بیماری هستند. روش درمانی اصلی و شایعی که امروزه برای درمان سرطان استفاده می شود شامل جراحی عضو سرطانی، رادیو تراپی و شیمی درمانی می باشد. سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال بدن رشد سریعی داشته و نیاز به خونرسانی بیشتری دارند. در بافت های سرطانی شرایط هایپوکسی وجود دارد. مشتقات نیتروایمیدازول در شرایط هایپوکسی موثرند بنابراین اثرات سایتوتوکسیستی انتخابی تر و در نتیجه عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمی درمانی رایج نشان می دهند. با توجه به آنچه گفته شد، در این مطالعه اثر داروهای سنتز شده از مشتقات نیتروایمیدازول بر روی سه رده ی A549, HT29, MCF7 مورد بررسی قرار گرفت.

**روش کار:** مشتقات نیتروایمیدازول بعد از ساخته شدن توسط پژوهشگران دانشکده داروسازی کرمان در اختیار ما قرار گرفت. تعیین اثرات سیتوتوکسیستی آن ها به روش MTT Proliferation Assay انجام شد: بدین صورت که تعداد ۱۰ هزار سلول در هر چاهک ظرف ۹۶ خانه کشت داده شد و در فاز لگاریتمی رشد، سلولها با غلظتهای مختلف مشتقات دارویی سنتز شده و داروی دوکسوروبیسین به عنوان کنترل مثبت و بمدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. در هر دور آزمایش گروههای کنترل در نظر گرفته شد. سپس در زمانهای ۲۴ ساعت بعد از تیمار، از معرف MTT به سلولها اضافه گردید و تغییرات جذب هر خانه بعد از ۴ ساعت خوانده شد. در پایان با ترسیم منحنیهای دوز-پاسخ، مقادیر دوزی از دارو که باعث مهار ۵۰ درصدی در رشد سلولها ( $IC_{50}$ ) برای هر دارو محاسبه گردید. محاسبه  $IC_{50}$  با آنالیز Probit و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت.

**نتایج:** بر اساس محاسبات انجام شده، بهترین اثر ( $IC_{50}$  بر روی رده سلولی HT29، A549 و MCF7 مربوط به ترکیب BNP میباشد. میزان  $IC_{50}$  بدست آمده برای ترکیب BNP بر روی سه رده ی سلولی به ترتیب ۹۴ و ۹۶ و ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر، برای ترکیب 4FP به ترتیب ۱۰۲ و ۱۲۹ و ۸۵ میکرو گرم بر میلی لیتر و برای ترکیب 4CP به ترتیب ۱۱۱ و ۱۳۴ و ۹۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود.  $IC_{50}$  محاسبه شده برای ترکیب PHN به ترتیب ۱۳۴ و ۱۰۷ و ۱۰۶ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

**نتیجه گیری:** چهار ترکیب از پنج ترکیب تست شده با غلظت های نسبتا پایین برای سه رده سلولی سمیت داشتند. بهترین ترکیب، BNP بود که دارای  $IC_{50}$  کمتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر برای هر سه رده سلولی بود.

کلمات کلیدی: برون تنی، سمیت سلولی، ۵- نیترو-۲-متیل ایمیدازول، رده سلولی، MTT

## Abstract

**Introduction:** Nowadays, the most important problem of the world is cancer, which affects many people each year. Therefore researchers are looking for a cure for this disease. The methods used today to treat cancer are surgery, radiotherapy and chemotherapy. The growth rate of cancer cells is more rapid than normal cells. Tumors have hypoxic conditions. Nitroimidazole derivatives acts at hypoxic conditions so they show more specific cytotoxicity and less side effects as compared to common chemotherapy agent. Based on this, the cytotoxic effects of new nitroimidazole derivatives were evaluated on three cell lines, MCF7, HT29, and A549.

**Method:** The cytotoxic effects of derivatives of nitroimidazole were determined using MTT Proliferation Assay as follows: 10000 cells were cultured in each well of a 96-well microplate. In the logarithmic phase of cell growth, cells treated with different concentrations of derivatives of nitroimidazole and Doxorubicin (as the positive control). In each stage of experiment, control groups of the vehicle were also considered. After twenty-four hours, MTT stock solution was added to the cells, and changes in adsorption of each well were checked after 4 hours incubation in the end, dose-response curves were drawn and  $IC_{50}$  values were measured for each compound using SPSS statistics software.

**Results:** According to the calculations, the best effect (the lowest  $IC_{50}$ ) on the HT29, A549 and MCF7 cell lines is related to the BNP. The  $IC_{50}$  values for the BNP compound on HT29, A549 and MCF7 cell lines were 94, 96 and 64  $\mu\text{g} / \text{ml}$ , respectively. The values for 4FP were 102, 129 and 85  $\mu\text{g} / \text{ml}$ , and for 4CP were 111 and 134 and 95  $\mu\text{g} / \text{ml}$ .  $IC_{50}$  values for PHN were calculated as 134 , 107 and 106  $\mu\text{g} / \text{ml}$ .

**Conclusion:** Four out of five compounds were cytotoxic for 3 cell lines in relatively low concentrations. The best one was BNP, which had an  $IC_{50}$  of less than 100  $\mu\text{g} / \text{ml}$  for the three cell lines.

**Keywords:** in vitro, cytotoxicity, 5- nitro-2-methyl imidazole, cell line, MTT